

Quantitative Bestimmung
von O-Antigen-Faktoren von Salmonellen
nach der Methode der indirekten Haemagglutination

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Edmund Adukwei/Hammond
aus Christiansborg / ACCRA GHANA

1967

9085

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Tübingen

Direktor: Professor Dr. med. R. -E. Bader

Quantitative Bestimmung
von O-Antigen-Faktoren von Salmonellen
nach der Methode der indirekten Haemagglutination

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Edmund Adukwei Hammond
aus Christiansborg / ACCRA GHANA

1967

Dekan: Professor Dr. F. Lembeck

Berichterstatter: Professor Dr. R. -E. Bader

MEINEN ELTERN

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. <u>EINLEITUNG</u>	1
1. Die Salmonellen	1
2. Die indirekte Haemagglutination	3
II. <u>EIGENE UNTERSUCHUNGEN</u>	
1. Material und Methoden	6
a) Verdünnungsmittel	6
b) Antigene	6
c) Seren	7
d) Erythrozyten	7
e) Die indirekte Haemagglutination	8
f) Absättigung nach der Methode von Castellani	8
2. Ergebnisse	10
a) Quantitative Bestimmung der O-Antigene III,XV des Bakterienstammes S. newington	10
b) Quantitative Bestimmung der O-Antigene VI,VIII des Bakterienstammes S. newport	18
c) Quantitative Bestimmung der O-Antigene IV,V,XII des Bakterienstammes S. paratyphi B	23
III. <u>DISKUSSION</u>	27
IV. <u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	28
V. <u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	29

I. EINLEITUNG

1. Die Salmonellen

Die Salmonellen sind gramnegative, nicht sporenbildende Stäbchenbakterien. Die meisten besitzen Geißeln und sind beweglich. Die Salmonellen besitzen daher O- (Körper) und H- (Geißel) Antigene. Ausnahmen bilden *S. pullorum* und *S. gallinarum*, die geißellos sind. Körper und Geißeln der Salmonellen bestehen nicht jeweils aus einem einzigen Antigen, sondern aus mehreren Partialantigenen, die als Antigenfaktoren bezeichnet werden. Viele gleiche dieser Partialantigene sind bei verschiedenen Salmonellentypen vorzufinden. Auf Grund von bestimmten O- und H- Antigenen, die mehreren Typen gemeinsam sind, läßt sich ein Antigenchema (KAUFMANN-WHITE) aufstellen. In diesem Schema sind die Salmonellen mit gemeinsamen O-Antigenen zu Untergruppen geordnet. Die thermostabilen O-Antigene, die mit arabischen Ziffern bezeichnet sind, sind thermostabile Protein-Polysaccharid-Lipoidkomplexe. Ihre Agglutinabilität und agglutininbindenden Eigenschaften bleiben beim Erhitzen auf 100° C oder bei Einwirkung von 50%igem Alkohol erhalten. Die H-Antigene werden mit kleinen lateinischen Buchstaben und arabischen Ziffern bezeichnet. Sie haben Eiweißcharakter, sind thermolabil und gehen schon bei 60° C oder bei Einwirkung von 50%igem Alkohol zugrunde. Je nach Ausbildung der H-Antigene spricht man von monophasischem oder diphasischem Stamm. Die ersteren sind die Stämme, in denen nur ein einziger Geißelantigenkomplex zur Ausbildung kommt, z.B. *S. paratyphi* A. Bei den diphasischen fehlt die Einheitlichkeit im Geißelantigenaufbau, beispielsweise findet man in Kulturen von *S. paratyphi* B Kolonien, die entweder das Antigen b oder die Antigene 1,2 enthalten. Zwischen diesen beiden Phasen spielt sich der Phasenwechsel ab. Ein anderes Phänomen ist der

O-Formenwechsel, der darin besteht, daß das O-Antigen eine quantitative Änderung erfährt, indem verschiedene Kolonien des gleichen Stammes mit einem bestimmten Partial-O-Antikörper verschieden stark reagieren. Ein völliger Verlust von O-Antigen führt zur Rauh- (R-) form.

Ein weiteres Körperantigen ist das Vi-Antigen. Es ist ein Polysaccharid, das an der Oberfläche der Bakterien haftet. Seine Anwesenheit kann eventuell zu einer kompletten O-Inagglutinabilität führen. Sie kann durch Erhitzen über 60° C aufgehoben werden.

Für die Gast-Wirt-Verhältnisse der Salmonellen ergibt sich folgendes Bild:

1) Nur menschenpathogen:

S. typhi, S. paratyphi A, S. paratyphi B, S. paratyphi C und S. sendai, Erreger des Paratyphus K in Japan.

2) Nur tierpathogen:

S. gallinarum, S. abortus bovis, S. abortus ovis, S. abortus equi, S. typhi suis.

3) Primär tierpathogen, auf Menschen übertragbar:

Alle anderen Typen.

Zwei Salmonellosen sind für den Menschen von besonderer Bedeutung, die typhös-paratyphösen Krankheiten und die akute Gastroenteritis (BADER 1949, 1958).

2. Die indirekte Haemagglutination

Die Methode der indirekten Haemagglutination ist sehr jung. In den Commonwealth Serum Laboratories in Melbourne, Australien, beobachteten KEOGH, NORTH und WARBURTON (1947, 1948), daß Polysaccharid-Antigen von Haemophilus influenzae an Erythrozyten adsorbiert werden kann und die Erythrozyten dadurch die Eigenschaft erwerben, durch Antikörper gegen Haemophilus influenzae agglutiniert werden zu können. Durch diese Entdeckung wurde das Interesse für die Weiterführung der serologischen Forschung auf diesem Gebiet angeregt. MIDDLEBROOK und DUBOS (1948) arbeiteten mit Tuberkelbakterien und kamen zu dem Ergebnis, daß die erworbene Agglutinabilität der modifizierten Erythrozyten durch einen thermostabilen Faktor bedingt wird, der aus der Polysaccharid-Fraktion der Tuberkelbakterien stammt. Die Ergebnisse dieser und anderer Forscher zeigten, daß die indirekte Haemagglutination sehr empfindlich und spezifisch ist, daß die Adsorption der angelagerten Antigene abhängig ist von der Konzentration der Antigene, von der Bindungszeit und von der Verdünnung der Erythrozytensuspension (NETER und Mitarbeiter 1952). Es lassen sich jedoch nur O-Antigene und das Vi-Antigen, dagegen nicht H-Antigene anlagern (SPAUN 1951).

Die indirekte Haemagglutination läuft in zwei Phasen ab. In der ersten Phase wird das Antigen an noch nicht bekannte Rezeptorareale an den Blutkörperchen angelagert, ohne eine sichtbare Veränderung zu bewirken. In der zweiten Phase werden die so modifizierten, mit Antigen beladenen Blutkörperchen durch Hinzufügen des den angelagerten Antigenen homologen Serums agglutiniert. Die indirekte Haemagglutination ist somit eine durch Vermittlung von Blutkörperchen in eine Agglutinationsreaktion umgewandelte Praecipitation. Erythro-

zyten mehrerer Warmblüter sind für dieses serologische Verfahren geeignet (NETER und GORZYNSKI 1959).

Die Anwendung der indirekten Haemagglutination ist weit verbreitet. Bei der Diagnose von Bakterienantigenen haben sich der Polyvalent- und der Hemmungs-Haemagglutinationstest bewährt. Durch polyvalent sensibilisierte Erythrozyten konnte SIEBURTH (1958) verschiedene Salmonellenspezies gleichzeitig erfassen. Er sensibilisierte die Erythrozyten mit *S. enteritidis*, *S. montevideo*, *S. typhimurium* und *S. anatum* und konnte dadurch die Agglutinine bei infizierten Kücken nachweisen. Der Haemagglutinations-Hemmungstest geht von dem Gedanken aus, daß eine Hemmung der spezifischen indirekten Haemagglutination eintritt, wenn dem zu bestimmenden Antigen vorher ein bekanntes ihm homologes Serum zugesetzt wird. Die Bestimmung dieser Hemmung erlaubt dann, Rückschluß auf die Menge des Antigens zu ziehen. Durch diese Methode ist es gelungen, kleine Mengen von Antigen von *Shigella dysenteriae* (NETER und GORZYNSKI 1954) und von *Pasteurella tularensis* (WRIGHT und FEINBERG 1952) nachzuweisen. Es ist MEYNELL (1954) sogar gelungen, mit der Methode die Lokalisation von Antigen in Bakterienzellen festzustellen. CHU und HOYT (1954) konnten auch die Differenzierung zwischen Vi-Antigen von *S. typhi* und Ballerup durchführen. Sie führten eine gekreuzte Absorption von Antikörpern mit Hilfe der indirekten Haemagglutination durch und zeigten, daß das Vi-Antigen von *S. ballerup* nicht gleichzusetzen ist mit dem von *S. typhi*.

Auf dem Gebiet der Immunologie arbeiteten WRIGHT und FEINBERG (1952) mit *Pasteurella-tularensis*-Hapten und kamen zu dem Ergebnis, daß das Hapten im Kaninchen immunisierende Eigenschaften hatte, wenn es vorher an Erythrozyten adsorbiert war. Auch CHU und HOYT (1954) konnten Kaninchen mit Vi-Antigen immunisieren, das an Erythrozyten adsorbiert wurde. Damit wurde die Beobachtung

bestätigt, daß Vi-Antigen, wenn es vom Bakterienleib getrennt ist, nicht als Vollantigen sondern als Hapten wirkt. Zuletzt sei erwähnt, daß STULBERG und Mitarbeiter (1956) durch die Haemagglutination die Erregernatur von E. coli Typ O 127 : B 8, die als Erreger von epidemisch auftretenden infantilen Diarrhoeen anzusehen sind, sicherten.

Die bisherigen Untersuchungen der genannten Autoren bezogen sich auf die qualitative und quantitative Bestimmung der Antigene zwischen verschiedenen Spezies. Die Aufgabe unserer Untersuchungen sollte sein, die Mengenverhältnisse der einzelnen Antigenfaktoren jeweils innerhalb eines Stammes quantitativ zu bestimmen.

II. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methoden

- a) Verdünnungsmittel: Physiologische Kochsalzlösung
- b) Antigene: Aus folgenden Salmonellenstämmen wurden die in dieser Arbeit verwendeten Antigene hergestellt:

Nr. der internationalen Salmonella Zentrale	Spezies	O-Antigen-Formel
84	<i>S. newington</i>	III,XV
76	<i>S. london</i>	III,X,XXVI
50	<i>S. newport</i>	VI,VIII
40	<i>S. thompson</i>	VI,VII
1	<i>S. paratyphi</i> A (1015)	I,II,XII
5	<i>S. paratyphi</i> B var. Java	IV,V,XII
65	<i>S. dublin</i>	I,IX,XII
103	<i>S. abony</i>	I,IV,V,XII
58	<i>S. typhi</i> (0 901)	IX,XII

Antigenbereitung:

Der Stamm wurde entweder auf Schrägagar oder große Agarschalen geimpft und 20 - 24 Stunden bei 37° C bebrütet. Mit physiologischer Kochsalzlösung wurde die Kultur abgeschwemmt und danach 1 Stunde autoklaviert. Nach Abkühlung wurde die Antigensuspension 1 Stunde bei 3000 U/Min. zentrifugiert. Der

Überstand wurde abpipettiert und für die Untersuchung verwendet. Die Verdünnungsreihe wurde geometrisch mit zweifachen Verdünnungsstufen hergestellt.

c) Seren:

Es wurden Seren verwendet, die durch Immunisierung von Kaninchen mit den unten aufgeführten Stämmen der internationalen Salmonellen-Zentrale Kopenhagen gewonnen worden waren. Durch 2 1/2 stündiges Kochen vor der Injektion wurden die Geißelantigene der Bakterien zerstört. Als Konservierungsmittel wurde Phenol 0,5%ig oder Merthiolat 1/10 000 verwendet. Die Verdünnungsreihen wurden geometrisch mit zweifachen Verdünnungsstufen hergestellt.

Serumherstellungsnummer	Verwendeter Stamm	O-Antigen-Formel
T 73	S. newington	III,XV
T 72	S. london	III,X,XXVI
T 71	S. newport	VI,VIII
T 69	S. coli	VI,XIV,XXV
T 19 a	S. paratyphi B (O-Form)	IV,V,XII
T 25	S. paratyphi A (O-Form)	I,II,XII

d) Erythrozyten:

Aus mit Glasperlen defibriniertem Hammelblut wurde durch dreimaliges Auswaschen mit physiologischer Kochsalzlösung das Serum entfernt. Nach der letzten Zentrifugation (10 Min. bei 2000 U/Min.) wurde das gewonnene Sediment 1 : 500 verdünnt. In dieser Verdünnung wurde das Blut für die Haemagglutination verwendet.

e) Die indirekte Haemagglutination:

Zunächst wurde eine Erythrozytenverdünnung 1 : 500 hergestellt. Zu der Antigenverdünnungsreihe wurde jeweils die gleiche Menge der Erythrozytensuspension gegeben. Das Gemisch von Erythrozyten und Antigen wurde kurz geschüttelt und 30 Min. im Wasserbad bei 37° C gehalten. Danach wurde das Gemisch 5 Min. bei 3000 U/Min zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Sediment in der ursprünglichen Menge physiologischer Kochsalzlösung zentrifugiert, um überschüssiges Antigen zu entfernen. Danach wurde das Sediment mit der ursprünglichen Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt. Zu dieser Suspension von Antigen-Erythrozyten-Gemisch wurde die gleiche Menge Serumverdünnung gegeben und dann 30 Min. im Wasserbad bei 37° C inkubiert. Hier muß betont werden, daß bei Blocktitrationen das Serum dem Antigen-Erythrozyten-Gemisch so zugesetzt worden war, daß jede Verdünnung des Antigens mit jeder Verdünnung des Serums reagieren konnte. Mit anderen Worten, die Titration war zweidimensional.

Nach der Inkubation wurde der ganze Komplex Antigen-Erythrozyten und Serum 3 Min. bei 3000 U/Min. zentrifugiert und das Resultat abgelesen. Dabei wurde die eingetretene Haemagglutination jeweils mit einer Antigen- (Antigen-Erythrozyten-Gemisch und physiologische Kochsalzlösung) und einer Serumkontrolle (Serum und Erythrozyten und physiologische Kochsalzlösung) verglichen.

f) Absättigung nach der Methode von Castellani (1902)

Die Absättigung wurde nach dem Verfahren der qualitativen Rezeptorenanalyse durchgeführt. Nach diesem Verfahren wird aus einem Serum mit Antikörpern gegen

verschiedene Antigenanteile ein bestimmter, unerwünschter Teil der Agglutinine entfernt. Die Herstellung des Einfaktorenserums wurde nach der Methode von CASTELLANI (1902) durchgeführt. Diese Methode hat sich in der Serologie bewährt; sie kann immer verwendet werden, wenn ein Phänomen der serologischen Verwandtschaft vorliegt. Beispielsweise liegt dieses Phänomen bei vielen Angehörigen der Salmonellengruppe und z.B. auch zwischen Rickettsien und Proteusbakterien vor. Die zur Absättigung verwendeten Stämme wurden mit Hilfe der Objektträgeragglutination geprüft und anschließend auf 20 Drigalskischalen mit Nähragar verimpft. Die Platten wurden 24 Stunden bei 37° C bebrütet, anschließend mit ca. 5 ml physiologischer Kochsalzlösung mit 0,5 % Phenolzusatz abgeschwemmt und bei 10 000 U/Min. 30 Min. zentrifugiert. Zum Sediment wurde das abzusättigende Serum (1 ml 1 : 5 verdünnt) zugesetzt und anschließend 5 Stunden bei 37° C gehalten; 30 Min. bei 10 000 U/Min. zentrifugiert. Der Überstand wurde als abgesättigtes Serum verwendet. Die Absättigungskontrollen sind aus den Einzelergebnissen ersichtlich.

2. Ergebnisse

a) Quantitative Bestimmung der O-Antigene III,XV des Bakterienstammes *S. newington*.

1) Titerbestimmung des Antigenkomplexes III,XV mit homologem Serum

Von O-Serum T 73 III,XV wurde eine Serumverdünnungsreihe 1:50 bis 1 : 25600 hergestellt. Anschließend wurde eine Antigenverdünnungsreihe 1 : 100, 1 : 200 usw. von *S. newington* III,XV hergestellt und jeweils 0,5 ml zu 0,5 ml einer Erythrozytenverdünnung 1 : 500 zugegeben. Dadurch entstand eine Antigenverdünnungsreihe von 1 : 200, 1 : 400 usw. Von diesem

Tabelle 1 Titerbestimmung des Antigens III, XV

Antigen - Ery - Gemisch III, XV												
O-Serum T 73 III, XV	1	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	Serum + Ag- + NaCl
	100	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+
	200	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+	+
	400	+++	+++	++	++	++	+	+	+	+	+	+
	800	+++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+
	1600	+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	3200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	6400	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12800	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25600	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	51200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ag- + NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Antigen-Erythrozyten-Gemisch wurden jeweils 0,5 ml zu 0,5 ml der erwähnten Serumverdünnung pipettiert. Dadurch wurde eine Serumverdünnungsreihe beginnend 1 : 400 erzielt. Die Endtiter des Antigens für die verschiedenen Serumkonzentrationen sind aus Tabelle 1 zu ersehen.

2) Herstellung, Prüfung und Titerbestimmung des abgesättigten Serums "XV"

Die Absättigung des O-Serums T 73 III,XV wurde mit dem Stamm 76 S. london, O-Antigenformel III,X,XXVI, durchgeführt. Das abgesättigte Serum "XV" wurde mit Hilfe der Objektträgeragglutination gegen folgende Stämme geprüft (S. Tabelle 2).

Stamm-Nr. der internat. S.- Zentrale	Spezies	O-Antigen- formel	Aggluti- nation
84	S. newington	III,XV	+
86	S. brunswick	III,XV	+
76	S. london	III,X,XXVI	Ø
78	S. anatum	III,X,XXVI	Ø
87	S. senftenberg	I,III,XIX	Ø
88	S. niloese	I,III,XIX	Ø

Tabelle 2

Der Titer des abgesättigten Serums "XV" wurde mit dem Antigen aus S. newington III,XV mit der indirekten Haemagglutination bestimmt. Das Serum war schon für die Absättigung 1 : 5 verdünnt worden. Es wurde bis 1 : 5120 weiterverdünnt.

Antigen-Erythrozyten-Verdünnung: Zu 3 ml einer Antigenverdünnung 1 : 400 wurden 3 ml Erythrozytensuspen-

sion (Verdünnung 1 : 500) zugesetzt. Dadurch entstand eine Antigenendverdünnung 1 : 800.

Das Serum "XV" reagierte mit dem Antigen III,XV bis zur Verdünnung 1 : 320 (s. Tabelle 3). Als Gebrauchstiter wurde die 4-fache Konzentration 1 : 80 verwendet.

Titerbestimmung vom Serum „XV“

Antigen III,XV	Abgesättigtes Serum „XV“										
	1	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
	800	+++	+++	+++	+++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖
											Ery. Ag. NaCl

Tabelle 3

3) Titerbestimmung des Serumfaktors III

Zur quantitativen Bestimmung des Antigens III wurde ein heterologes Serum III,X,XXVI verwendet, dessen Faktor III mit einem Antigen III,XV bestimmt wurde. Das Ergebnis in Tabelle 4 zeigt, daß das Antigen (Verdünnung 1 : 400) mit dem Serum T 72 III,X,XXVI d.h. mit dem Faktor III bis zu einem Titer von 1 : 3200 reagierte. Um mit Sicherheit positive Reaktionen zu erhalten, wurde jeweils mit der 4-fachen Konzentration des Endtiters, also in diesem Fall mit der Verdünnung 1 : 800 weitergearbeitet.

Titerbestimmung des Serumfaktors III

		Antigen - Ery - Gemisch III, XV											
O - Serum	Titer	1	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	Serum + Ery
		III	XXVI	III	XXVI	III	XXVI	III	XXVI	III	XXVI	III	XXVI
		100	+++	+++	+++	+++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		200	+++	+++	+++	+++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		400	+++	++	+++	+++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		800	+++	++	+++	++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		1600	+++	++	++	++	+	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		3200	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		6400	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		12800	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		25600	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		51200	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
		AG - neg NaCl	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 4

4) Titerbestimmung der Antigenfaktoren III und XV

Im Hauptversuch wurden die Titer der Partialantigene III und XV mit einem Serum III,X,XXVI in der Verdünnung 1 : 800 und mit einem abgesättigten Serum "XV" in der Verdünnung 1 : 80 bestimmt. Die Antigen-Erythrozyten-Verdünnungsreihe wurde in der Verdünnung von 1 : 400 bis 1 : 204800 hergestellt. Die Tabelle 5 zeigt, daß der Faktor III einen höheren Titer (1 : 25600) als der Faktor XV (1 : 3200) hatte. Der Unterschied lag bei 3 Verdünnungsstufen.

Titerbestimmung des Antigens III XV mit
abgesättigtem Serum, XV u. Serum III X XXV

O-Serum X III	Antigen v. Stamm 84 III XV											
	1	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	NaCl Ery Serum
	800	+++	+++	+++	+++	++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖

Abgesättigtes Serum, XV	1	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	102400	204800	NaCl Ery Ser
80	+++	+++	+++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 5

Prüfung ob Serum, XV bei höherer
Verdünnung negativ ausfällt, während das
Serum III X XXV noch positiv bleibt

Antigen, III XV	Serum-Verdünnungsreihe, XV											
	1	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	NaCl Ery
	3200	+	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	6400	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	12800	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	25600	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	Serum-Verdünnungsreihe III X XXV											
	3200	+++	+++	+++	++	++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	6400	++	++	++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	12800	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	25600	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 6

Zur Sicherung dieser Beobachtung wurde ein weiterer Versuch durchgeführt (s. Tabelle 6). Das Antigen III, XV wurde in 4 verschiedenen Verdünnungen (1 : 3200 bis 1 : 25600) in einem Versuch mit gleichen Verdünnungsreihen (1 : 50 bis 1 : 25600) der beiden Seren "XV" und III,X,XXVI angesetzt.

Die Ergebnisse in Tabelle 6 zeigten deutlich, daß der Faktor XV in geringerer Menge vorhanden war als der Faktor III. Die Ergebnisse in Tabelle 5 wurden dadurch bestätigt.

Zur Erhärtung der oben beschriebenen Versuche wurden mit denselben Seren und Antigenen die Untersuchungen wiederholt und zwar wurden alle Versuche mit zweidimensionalen Titrationen durchgeführt. Dieses schien notwendig, da es möglich ist, daß die Höhe der Serumtiter abhängig ist von der Antigenmenge, die an die Erythrozyten adsorbiert ist. Zunächst wurde das Serum T 72 III,X,XXVI mit dem Stamm 84, O-Antigenformel III,XV angesetzt. Der gleiche Versuch wurde wiederholt mit dem abgesättigten Serum "XV". Wenn man nun die beiden Ergebnisse, die aus den Tabellen 7 und 8 ersichtlich sind, miteinander vergleicht, so sieht man, daß der Titer des Antigenfaktors III bei gleicher Serumverdünnung viel höher liegt, als der des Faktors XV.

T 72 III. X. XXVI - O - Serum
mit Stamm 84 120° Überstand III. XV

Serum-Verdünnungsreihe

Antigen III. XV an Ery

1	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	Ag Ery
2	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+
4	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+
8	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+
16	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+
32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
64	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
128	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
256	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
512	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
1024	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
2048	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
4096	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
8192	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
16000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+
32000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
64000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
128000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
256000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
512000	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ser Ery	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle 7

Serum "XV" angesetzt mit Stamm 84 III XV
120°C überstand

Serum-Verdünnungsreihe											
Antigen III XV an Ery.	1	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	AG Ery
	2	+++	+++	+	○	○	○	○	○	○	○
	4	+++	+++	++	○	○	○	○	○	○	○
	8	+++	+++	++	○	○	○	○	○	○	○
	16	+++	+++	++	+	○	○	○	○	○	○
	32	+++	+++	++	+	○	○	○	○	○	○
	64	+++	++	++	+	○	○	○	○	○	○
	128	+++	+++	++	+	○	○	○	○	○	○
	256	+++	+++	++	++	○	○	○	○	○	○
	512	+++	+++	++	○	○	○	○	○	○	○
	1024	++	++	+	○	○	○	○	○	○	○
	2048	++	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	4096	+	+	○	○	○	○	○	○	○	○
	8192	+	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	16000	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	32000	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	64000	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	Ser. Ery	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Tabelle 8

- b) Quantitative Bestimmung der O-Antigene VI, VIII des Bakterienstammes S. newport.

1) Titerbestimmung des Antigenkomplexes VI, VIII mit homologem Serum

Der Titer des Antigenkomplexes VI, VIII aus Stamm S. newport mit dem Serum VI, VIII wurde mit Hilfe der indirekten Haemagglutination bestimmt. Das Serum wurde in der Verdünnung 1 : 100 zu einer Antigenverdünnungsreihe von 1 : 300 bis 1 : 153600 gegeben (s. Tabelle 9).

Titerbestimmung des Antigens VI VIII											
Antigen - Ery - Gemisch VI VIII 1:300											
Titer Serum VIII 1:100	1	300	600	1200	2400	4800	9600	19200	38400	76800	153600
Serum VI	100	+++	+++	+++	+++	++	0	0	0	0	0

Tabelle 9

Aus Tabelle 9 ist ersichtlich, daß das Antigen-Erythrozyten-Gemisch mit dem Serum bis zu einem Titer von 1 : 4800 reagierte.

2) Herstellung, Prüfung und Titerbestimmung des abgesättigten Serums "VIII"

Ein Serum "VIII" wurde durch Absorption eines Serums VI, VIII aus S. newport mit dem Stamm S. thompson (VI, VII) hergestellt. Es wurde mit Hilfe der Objektträgeragglutination geprüft.

Stamm-Nr. der internat. S.- Zentrale	Spezies	O-Antigen- formel	Aggluti- nation
50	<i>S. newport</i>	VI,VIII	+
52	<i>S. kottbus</i>	VI,VIII	+
40	<i>S. thompson</i> (var. Berlin)	VI,VII	Ø
32	<i>S. paratyphi</i> C	VI,VII, Vi	Ø
1	<i>S. paratyphi</i> A	I,II	Ø
9	<i>S. typhimurium</i>	IV,V	Ø
59	<i>S. typhi</i>	IX,Vi	Ø
64	<i>S. enteritidis</i>	I,IX	Ø

Tabelle 10

Die Bestimmung des Titters des abgesättigten Serums "VIII" wurde mit dem Antigen aus *S. newport* mit der indirekten Haemagglutination durchgeführt. Als Verdünnung des Antigens wurde 1 : 2400 gewählt. Vom Serum wurde eine Verdünnungsreihe 1 : 50 bis 1 : 25600 hergestellt. Es wurde ein Serumtiter von 1 : 800 ermittelt, wie aus Tabelle 11 zu ersehen ist. Als Gebrauchstiter wurde 1 : 200 , d.h. die 4-fache Konzentration des Endtitors gewählt.

Titerbestimmung d. abgesättigten Serums „VIII“

Antigen VI VIII 1:2400	Serum „VIII“										Negl Ery Serum
	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	
	++	++	++	++	+	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	

Tabelle 11

3) Titerbestimmung des Serumfaktors VI

Zur quantitativen Bestimmung des Antigens VI wurde ein Serum benötigt, das den Faktor VI, aber nicht den Faktor VIII enthielt. In Tabelle 12 sind die Ergebnisse der Titerbestimmung von 2 verschiedenen VI,VII Seren mit einem Antigen VI,VIII aufgeführt. Das Serum T 71 VI,VIII diente als Kontrolle.

		Titerbestimmung des Serums T 70 T 71 K ₄ in indirekter Hämagglutination												
		Serum-Verdünnungsreihen												
Antigen aus Stamm	VII	1	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	2560	NaCl Ery Serum	
	VI	200	++	++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	T 70	VI VII
	VI	200	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	⊖	⊖	T 71	VI VII
	VI	200	+	(+)	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	K ₄	VI VII

Tabelle 12

Der Titer des Serums T 70 war höher als der des Serums K 4. Deshalb wurde das Serum T 70 VI, VII für die weiteren Untersuchungen gewählt.

4) Titerbestimmung der Antigenfaktoren VI und VIII

Die Aufgabe des Hauptversuches war festzustellen, in welchem Verhältnis die beiden Faktoren VI und VIII im O-Antigenkomplex aus S. newport nebeneinander vorlagen. Die Titer der Partialantigene wurden mit dem abgesättigten Serum "VIII" und mit dem Serum VI,VII bestimmt. Hierfür wurde der Antigenkomplex von 1 : 200 bis 1 : 102400 mit 2-fachen Titerstufen verdünnt.

Die Serumverdünnung von "VIII" betrug 1 : 200, die für VI, VII 1 : 100. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 13 ersichtlich.

Titerbestimmung d. Antigens $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VIII}}$ mit abgesättigten Serum „ $\overline{\text{VIII}}$ “ und Serum $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VII}}$

Serum „ $\overline{\text{VIII}}$ “	Antigen $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VIII}}$										
	1	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	Nach Erg. Serum
	200	++	++	++	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
Serum $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VII}}$	Antigen $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VIII}}$										
	1	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	Nach Erg. Serum
	100	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 13

Prüfung ob Serum $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VII}}$ bei höherer Verdünnung negativ ausfällt, während Serum „ $\overline{\text{VIII}}$ “ noch positiv ist

Verdünnungsreihe fürs Antigen $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VIII}}$	Verdünnungsreihe fürs Serum „ $\overline{\text{VIII}}$ “										
	1	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	Nach Erg.
	400	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	(+)	(+)	⊖
	800	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	(+)	⊖	⊖
	1600	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	⊖	⊖
	3200	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	(+)	⊖
	Verdünnungsreihe fürs Serum $\overline{\text{VI}}$ $\overline{\text{VII}}$										
	400	(++)	++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	800	(+)	+	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	1600	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
	3200	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 14

Die Ergebnisse zeigten einen deutlichen Reaktionsunterschied zwischen dem Antigenfaktor VIII einerseits und dem Antigenfaktor VI andererseits. Der Unterschied lag bei 3 Verdünnungsstufen.

Während bisher mit einem einzigen Serumtiter gearbeitet worden war, wurde anschließend geprüft, ob entsprechende quantitative Verhältnisse auch bei Verwendung verdünnter Seren erzielt werden konnten. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 14 zu ersehen.

Beim Vergleichen beider Titrationsen ergibt sich folgendes: Bei einer Verdünnung des Serums "VIII" von 1 : 80 findet eine Agglutination bis zu einem Antigentiter von mindestens 1 : 3200 statt, während die Agglutination mit dem Serum VI,VII nur bis zu einem Antigentiter von 1 : 800 schwach positiv war.

Bei der Serumverdünnung 1 : 160 dagegen liegt der Titer des Antigens bei Serum "VIII" ebenfalls bei 1 : 3200, während es mit dem Serum VI, VII bei der Verdünnung 1 : 160 zu keiner Agglutination mehr kam. Es war also möglich, eine Verdünnung des Antigenkomplexes VI,VIII zu erhalten, in dem noch das Antigen VIII nachgewiesen wurde, aber nicht mehr das Antigen VI. Damit ist bewiesen, daß das Antigen VIII in wesentlich größerer Menge im Antigenkomplex von S. newport enthalten war als das Antigen VI. Zur Erhärtung dieser Versuche wurden die Untersuchungen wiederholt und zwar als 2-dimensionale Titrationsen. An Stelle des abgesättigten Serums "VIII" wurde ein Serum VIII,XX verwendet. Dies ist möglich, weil dieses Serum nur den Faktor VIII, jedoch nicht den Faktor XX mit dem verwendeten Antigen gemeinsam hat. Die Resultate, auf deren tabellenmäßige Wiedergabe verzichtet werden kann, bestätigten die bisher erzielten Ergebnisse.

c) Quantitative Bestimmung der O-Antigene IV,V,XII des Bakterienstammes S. paratyphi B.

1) Titerbestimmung des Antigenkomplexes IV,V,XII mit homologem Serum

Der Titer des Antigenkomplexes IV,V,XII aus Stamm S. paratyphi B wurde mit dem Serum IV,V,XII und mit der Technik der indirekten Haemagglutination bestimmt. Das Serum wurde in der Verdünnung 1 : 400 benützt. Von dem Antigen wurden Verdünnungen von 1 : 20 bis 1 : 10240 hergestellt. Das Ergebnis geht aus Tabelle 15 hervor, die zeigt, daß es bis zu einer Antigenverdünnung von 1 : 2560 zu einer wenn auch schwachen Reaktion kam. Für die weiteren Untersuchungen wurde deshalb die Verdünnung 1 : 80 verwendet. Dieses Resultat gestattet kein Urteil über die mengenmäßigen Anteile der einzelnen Partialantigene.

Titerbestimmung d. Antigens St. ⑤ IV V XII

Serum verd. T _{19a} IV V XII	Antigen-Verdünnungsreihe											Nach Serum S _{ty}
	1	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	
	400	++	+	++	++	(++)	(+)	(+)	(+)	⊖	⊖	⊖

Tabelle 15

2) Herstellung, Prüfung und Titerbestimmung des abgesättigten Serums "IV,V"

Die weitere Aufgabe bestand darin, den mengenmäßigen Anteil des Antigenkomplexes "IV,V" gegenüber dem Antigen XII festzustellen. Zu diesem Zweck wurde zunächst ein "IV,V" - Faktorens Serum durch Absättigung von Serum T 19a IV,V,XII mit S. typhi O 901 IX,XII hergestellt. Der Erfolg der Absättigung wurde mit der Technik der Objektträgeragglutination mit folgenden Stämmen geprüft:

Stamm-Nr. der internat. S.- Zentrale	Spezies	O-Antigen- formel	Aggluti- nation
1	S. paratyphi A	I,II,XII	Ø
2	S. paratyphi A var. durazzo	II,XII	Ø
5	S. paratyphi B var. Java	IV,V,XII	+
11	S. typhimurium var. Kopenhagen	IV,XII	+
58	S. typhi	IX,XII	Ø
64	S. enteritidis	(I),IX,XII	Ø
65	S. dublin	(I),IX,XII	Ø

Tabelle 16

Die Titerbestimmung des abgesättigten Serums "IV,V" wurde mit Hilfe der indirekten Haemagglutination durchgeführt. Als Antigen diente ein an Erythrozyten angelagerter Extrakt aus Stamm 5 (IV,V,XII) in der Verdünnung 1 : 80. Die Resultate sind aus Tabelle 17 zu ersehen. Der Titer des Serums wurde mit 1 : 5120 festgestellt.

Serumtiterbestimmung von Serum T25 I II XII
mit Stamm ⑤ IV V XII

Stamm ⑤ IV V XII	Serum I II XII										
	1	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120
	80	+++	+++	+++	+++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
Serumtiterbestimmung von Serum „IV V“											
	80	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	(+)

Tabelle 17

3) Titerbestimmung des Serumfaktors XII

Für die Bestimmung des Antigens XII wurde ein unabgesättigtes Serum I,II,XII verwendet. Wie ebenfalls aus Tabelle 17 zu ersehen ist, wurde der Titer des Faktors XII mit 1 : 160 festgestellt.

4) Titerbestimmung der Antigenfaktoren IV,V und XII

Die Aufgabe des Hauptversuches bestand darin, festzustellen, in welchem Verhältnis der Antigenkomplex IV,V und das Antigen XII im O-Antigenkomplex von S. paratyphi B vorliegen. Die Titer der beiden Antigene wurden mit dem abgesättigten Serum "IV,V" und mit dem Serum XII bestimmt. Tabelle 18 zeigt, daß das Antigen XII in geringfügig kleinerer Menge vorlag als der Faktorenkomplex IV,V. Der Unterschied liegt bei zwei Verdünnungsstufen.

: Titerbestimmung des Stammes 5 IV V XII
mit abgesättigt. Serum „IV V“ und Serum T25

Serumverd.	Stamm												NaCl Serum Zry
	(5)	1	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	
<u>IV V</u>	640	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	⊖	⊖	⊖	
T25	40	+++	+++	+++	+++	+++	++	(+)	⊖	⊖	⊖	⊖	

Tabelle 18

Zur Bestätigung der Ergebnisse, die in Tabelle 18 niedergelegt sind, wurde anschließend geprüft, ob entsprechende quantitative Verhältnisse auch bei Verwendung weiterer Verdünnungsstufen der Seren erzielt würden. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 19 zu ersehen. Aus ihr geht hervor, daß die Reaktionsunterschiede zwischen dem Antigenkomplex IV,V und dem Antigen XII deutlich hervortreten. Bei einer Serumverdünnung von 1 : 40 beträgt

der Endtiter für den Komplex IV,V 1 : 5120, der Endtiter für den Faktor XII 1 : 1280. Bei einer Serumverdünnung von 1 : 80 beträgt der Endtiter für den Komplex IV,V 1 : 2560, für den Faktor XII 1 : 1280. Bei Serumverdünnungen von 1 : 160 und 1 : 320 wurde schließlich für den Komplex IV,V ein Titer von 1 : 2560 festgestellt, während der Faktor XII keine Reaktion mehr aufwies.

Damit wurde bewiesen, daß bei dem geprüften Stamm der Faktorenkomplex IV, V in größerer Menge vorlag als der Faktor XII.

Prüfung ob Serum T25 I II XII bei höheren Verdünnung neg. ausfällt während Ser. IV V noch positive Reaktion

Serum verdünnungsreihe abgetriggt Serum „IV V“

Antigen verdünnungsreihe
Stamm ⑤

	1	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480	Nach t. 4y
XIII	1280	++	+++	+++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	2560	+++	+++	+++	+	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	5120 (+)	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	10240	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Serum T25 I II XII

	1280	2560	5120	10240								
IV V	++	++	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
IV V	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖

Tabelle 19

III. DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe der indirekten Haemagglutination festzustellen, ob es möglich sei, in O-Antigenkomplexen aus 2 Partialantigenen die Mengenverhältnisse dieser Partialantigene orientierend zu bestimmen. Dabei war von dem Gedanken ausgegangen worden, daß es möglich sein müsse, mit Hilfe titrierter Seren die gerade noch agglutinablen Antigenmengen festzustellen, und aus dem Vergleich der Titer Rückschlüsse auf die Mengenverhältnisse zu ziehen. Für die Untersuchungen wurden 3 verschiedene Salmonellaspezies verwendet. Bei *S. newington* sollte das Mengenverhältnis der Antigene III und XV, bei *S. newport* das Mengenverhältnis der Antigene VI und VIII und bei *S. paratyphi B* das Mengenverhältnis des Antigenkomplexes IV,V und des Antigens XII festgestellt werden. Die Resultate ergaben die Richtigkeit der Überlegungen. Bei *S. newington* und *S. paratyphi B* stellte es sich heraus, daß die Hauptantigene, d.h. die für die Gruppeneinteilung herangezogenen Antigene (III und IV,V) regelmäßig in größerer Menge vorhanden waren als die Nebenantigene (XV und XII). Damit wurde mit Hilfe der indirekten Haemagglutination für *S. newington* und *S. paratyphi B* bestätigt, was in der Regel als Ergebnis der direkten Agglutination (WIDAL'sche Reaktion) bzw. durch die Absorption bereits bekannt war. Diese Tatsache konnte bei *S. newport* nicht bestätigt werden, denn es ließ sich bei diesem Stamm mit Hilfe der indirekten Haemagglutination feststellen, daß das Nebenantigen VIII in größerer Menge als das Hauptantigen vorhanden war. Derartige Untersuchungen eröffnen die Möglichkeit, auch bei anderen Antigenkomplexen, die serologisch weniger gut bearbeitet sind als die der Salmonellen, entsprechende quantitative orientierende Untersuchungen durchzuführen.

IV. ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe der indirekten Haemagglutination wurden die relativen Mengenverhältnisse der Partialantigene III und XV in *S. newington*, der Partialantigene VI und VIII in *S. newport* und IV, V und XII in *S. paratyphi B* bestimmt. Es zeigte sich im Gegensatz zu Resultaten, die mit anderen Methoden gewonnen werden, daß die für die Gruppeneinteilung wichtigen Hauptantigene nicht immer in größeren Mengen im Bakterienleib vertreten sind als die Nebenantigene.

V. LITERATURVERZEICHNIS

1. BADER, R.-E.: Die Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe (Salmonella-Gruppe)
Weichardt's Ergebn. 26, 235 (1949)
2. BADER, R.-E.: Die Salmonellosen (Typhus-Paratyphus-Enteritis)
Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger.
Herausg. von Grumbach, A. und Kikuth, W.
Band I, Thieme-Verlag, Stuttgart (1958)
3. CASTELLANI, A.: Die Agglutination bei gemischter Infektion und die Diagnose der letzteren
Zschr. Hyg. 40, 1 (1902)
4. CHU, D.; CHI-YEN und HOYT, R.E.: Reactions of T Vi and ballerup Vi haptenes with antisera against Vi-coated erythrocytes
J. Hyg. 52, 100 (1954)
5. KAUFMANN, F.: On the serology of the Salmonella group
Acta path. et microbiol. Scand. 24, 242 (1947)
6. KAUFMANN, F.: Enterobacteriaceae
Copenhagen (1951)
7. KEOGH, E.V.; NORTH, E.A.; and WARBURTON, M.F.: Haemagglutinins of the haemophilus group
Nature 160, 63 (1947)
8. KEOGH, E.V.; NORTH, E.A.; and WARBURTON, M.F.: Adsorption of bacterial polysaccharides of tubercle bacilli
Nature 161, 687 (1948)
9. MEYNELL, G.G.: The antigenic structure of Mycobacterium tuberculosis, var. hominis
J. Path. Bact. 67, 137 (1954)
10. MIDDLEBROOK, G. and DUBOS, R.J.: Specific serum agglutination of erythrocytes sensitised with extractes of tubercle bacilli
J. Exp. Med. 88, 521 (1948)
11. NETER, E.: Bacterial Hemagglutination and Hemolysis
Bact. Rev. 20-21, 166 (1956)

12. NETER, E.; BERTRAM, L.F.; ZAK, D.A.; MURDOCK, M.R. and ARBESMAN, C.E.J.: Studies on Haemagglutination and Hemolysis by Escherichia-Coli-Antisera
J. of Med. 98, 1 (1952)
13. NETER, E. and GORZYNSKI, E.A.: Studies on indirect staphylococcal hemagglutination
Z. Imm.Fschg. u. exp. Ther. 118, 269 (1959)
14. SIEBURTH, T.Mc.N.: The indirect Hemagglutination-test in the avian Salmonella problem
Amer. J. Vet. Res. 19, 729 (1958)
15. SPAUN, J.: On the determination of Vi-antibodies by Hemagglutination
Acta path. et microbiol. Scand. 32, 259 (1952)
16. STULBERG, C.S.; ZUELZER, W.W.; and PAGE, R.H.: Escherichia coli O 127:B 8, a serotype causing infantile diarrhea
J. Immunol. 76, 281 (1956)
17. WRIGHT, G.G. and FEINBERG, R.J.: Hemagglutination by tularemia antisera
J. Immunol. 68, 65 (1952)

Diese Arbeit wurde auf Veranlassung und unter Leitung von Herrn Professor Dr. med. Richard-Ernst B a d e r am Hygiene-Institut der Universität Tübingen durchgeführt.

Ich danke meinem Lehrer für die Überlassung des Themas und für die großzügige Förderung der vorliegenden Untersuchungen. Mein Dank gilt auch den Angehörigen des Hygiene-Instituts für ihre Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Am 6. 3. 1935 bin ich, Edmund Hammond, als Sohn des Samuel Arma Hammond und seiner Frau Theresa Lamiley in Christiansborg/Accra, Ghana geboren. Meine Schul- und Collegzeit schloß ich in Christiansbourg Presbyterian Senior Boys' Boarding School; Odorgonno Secondary School, Accra; und Kumasi College of Technology arts Science ab. Im Mai 1959 kam ich nach Deutschland. Nach einem abgeschlossenen Sprachkursus in München fing ich mit dem Studium der Medizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen an. Meine vorklinischen und klinischen Semester absolvierte ich in der gleichen Universität, wo ich am Hygiene-Institut von März 1963 bis Juli 1965 meine Doktorarbeit gemacht habe. Das Medizinische Staatsexamen habe ich im Sommersemester 1966 in Tübingen bestanden.

